

ВЛИЯНИЕ НА НЕКОТОРЫЕ ВОДО-ЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВВЕДЕНИЯ КАДМИЯ НА ФОНЕ КАЛЬЦИТОНИНВЫЗВАННОЙ МОДЕЛИ ГИПОКАЛЬЦИЕМИИ

Кокаев Р.И.¹, Брин В.Б.²

¹ФГБУН Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН, Владикавказ, e-mail: romesh_k@mail.ru;

²ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава РФ, Владикавказ, e-mail: vbbrin@yandex.ru

У крыс линии Вистар избыточным введением кальцитонина (препаратом «Миакальцик») вызывалась модель гипокальциемии, на фоне чего изучались эффекты подкожного введения сульфата кадмия в дозе 0,3 мг/кг. Результаты исследований показали взаимное влияние длительной экспозиции субтоксичных дозировок кадмия и вызванной гипокальциемии. Кадмий при сочетанном введении с кальцитонином вызывал усиление нарушений водного и электролитного обмена, повышал экскрецию воды, кальция, натрия и калия за счет снижения их реабсорбции. Нарушение обмена электролитов, уровня кальция в крови сопровождалось гемодинамическими изменениями и имело с ними корреляционные связи. У животных избыток как кальцитонина, так и кадмия вызывал повышение среднего артериального давления. Влияние кальцитонина проявлялось повышением в основном систолического артериального давления и пульсового артериального давления, а токсическое действие кадмия в большей степени – повышением диастолического артериального давления и частоты сердечных сокращений. Можно предположить, что изменения в гемодинамике в большей степени связаны не столько с нарушением обмена катионов на уровне почек, сколько с известным влиянием кальцитонина и кадмия на мембранный транспорт электролитов. Как показали результаты нашей работы, имеются механизмы сочетанного потенцирования эффектов как изменений гемодинамики, так и в обмене электролитов.

Ключевые слова: водо-электролитный обмен, метаболизм кальция, кальцитонин, кадмиевая интоксикация, гемодинамика, артериальное давление.

EFFECTS ON SOME WATER-ELECTROLYTIC AND HEMODYNAMIC INDICATORS OF CADMIUM EXPOSURE ON THE BACKGROUND OF CALCITONIN-INDUCED HYPOCALCEMIA MODEL

Kokaev R.I.¹, Brin V.B.²

¹Institute of Biomedical Research, VSC RAS, Vladikavkaz, e-mail: romesh_k@mail.ru;

²FSBEI of HE North-Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladikavkaz, e-mail: vbbrin@yandex.ru

In Wistar rats, by excessive administration of calcitonin (Miacalcic), was induced a hypocalcemia model, on which background were studied the effects of subcutaneous administration of cadmium sulfate at a dose of 0.3 mg/kg. The research results showed the mutual influence of a long exposure of subtoxic dosages of cadmium and induced hypocalcemia. Cadmium, when combined with calcitonin, caused increased disturbances in water and electrolyte metabolism, increased excretion of water, calcium, sodium and potassium, due to a decrease in their reabsorption. Violation of the exchange of electrolytes, the level of calcium in the blood was accompanied and had correlation with hemodynamic changes. In animals, excesses of both calcitonin and cadmium caused an increase in mean arterial pressure. The effect of calcitonin was manifested by an increase, mainly of systolic blood pressure and pulse blood pressure, and the toxic effect of cadmium, to a greater extent, by an increase in diastolic blood pressure and heart rate. It is possible to assume that the changes in hemodynamics are more related not so much with impaired cation exchange at the kidney level as with the known effect of calcitonin and cadmium on the membrane transport of electrolytes. And as the results of our work have shown, there are mechanisms for combined potentiation of effects, both of hemodynamic changes and in the exchange of electrolytes.

Keywords: water-electrolyte metabolism, calcium metabolism, calcitonin, cadmium intoxication, hemodynamics, blood pressure

Прямые токсические эффекты воздействия тяжелых металлов на живые организмы изучаются уже длительное время. Известно, что кадмий оказывает отравляющее воздействие на все системы организма, на метаболизм жизненно важных элементов, на процессы

перекисного окисления липидов [1, 2], вызывает угнетение жизненно важных ферментных каскадов [3] с дальнейшим повреждением клеток и тканей, вплоть до запуска механизмов митохондриального, кальцийзависимого апоптоза [4, 5]. Наибольшим повреждающим воздействиям подвергаются ткани почек и печени [6, 7]. Вызывая повреждения в канальцевом аппарате почек, кадмий нарушает почечную обработку электролитов и изменение их метаболизма в организме [8, 9]. Помимо этого, кадмий в значительной степени негативно влияет на метаболизм кальция на уровне регуляторных систем, изменяя уровень паратгормона, кальцитонина и кальцитриола, а также подвергая резорбции костную ткань [10–12]. Кадмий, являясь металлом с переменной валентностью, может мимикрировать эффекты кальция, конкурентно блокируя его каналы, и тем самым приводить к повышению концентрации катиона в клетках гладких мышц сосудов и увеличению сосудистого сопротивления [13]. Наряду с этим кадмий, активируя перекисное повреждение структур клеток, уменьшает биодоступность естественных вазодилататоров, таких как оксид азота, что также способствует повышению тонуса сосудов и гипертензивному эффекту металла [14]. Выяснение роли кальция и его измененного обмена в настоящее время является ключевым моментом в понимании механизмов токсических влияний соединений кадмия на систему выделения и кровообращения.

В связи с вышеуказанным целью данного исследования было изучение влияния сульфата кадмия на функции почек и электролитный обмен, а также на некоторые показатели гемодинамики на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина.

Материалы и методы исследования

Работа проведена на крысах-самцах линии Вистар массой 200–300 г. В проведении экспериментов руководствовались статьей 11 Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267).

В эксперименте животные были разделены на 4 группы: 1-я группа – интактные животные (группа Фон); 2-я группа – контрольные животные с моделью гипокальциемии, вызываемой подкожным введением кальцитонина (препарат «Миакальцик») в дозировке 0,6 ЕД/100 г массы тела в течение 30 дней (группа КТ); 3-я группа – контрольные животные с моделью кадмиевой интоксикации, реализуемой подкожным введением сульфата кадмия в дозировке 0,3 мг/кг (в пересчете на металл) в течение 30 дней ежедневно 1 раз в сутки (группа Cd); 4-я группа – животные с сочетанным подкожным введением сульфата кадмия и препарата «Миакальцик» в соответствующих дозировках и в те же сроки (группа КТ+Cd).

Сбор мочи осуществлялся в течение 6 часов в обменных клетках. В условиях спонтанного диуреза определялись объем диуреза, скорость клубочковой фильтрации по клиренсу эндогенного креатинина, канальцевая реабсорбция воды. Для исследования показателей системной гемодинамики животное помещали в индивидуальную камеру, установленную на термостатную пластину с температурой 37°C. В течение 10 минут животное находилось в камере для адаптации. Регистрацию артериального давления (АД) с помощью прибора «Систола» проводили неинвазивным методом путем наложения датчика на основание хвоста. Определяли систолическое давление (СД) и диастолическое давление (ДД), а также частоту сердечных сокращений (ЧСС), рассчитывали пульсовое давление (ПД) и среднее артериальное давление (САД) по формуле $САД = ДД + 1/3ПД$.

По истечении сроков эксперимента животные выводились из эксперимента под тиопенталовым наркозом для исследования показателей крови (креатинина, электролитов). Определяли концентрацию общего белка (по методу Лоури), креатинина и кальция в биологических жидкостях (моче и плазме крови) с помощью спектрофотометра (Arel PD-303), концентрацию натрия и калия – методом пламенной фотометрии (ФПА-2). Все исследуемые показатели также определяли у интактных крыс, с которыми сравнивали показатели экспериментальных животных. Статистическая обработка результатов исследования, учитывая нормальное распределение рядов сравнения, проводилась с применением t-критерия Стьюдента с использованием программы GraphPad Prizm 6.1. Об отсутствии значимых различий и факторных влияний судили при критическом уровне достоверности (p), меньшем или равном 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В показателях водовыделительной функции почек (рис. 1) у животных контрольных групп отмечалось повышение диуреза относительно интактных (все $p < 0,001$), в большей степени при введении кадмия на фоне гипокальциемии. У обеих групп крыс с введением кадмия (Cd и Cd+КТ) эти изменения произошли вследствие выраженного снижения канальцевой реабсорбции воды, также в большей степени у группы с сочетанным введением кадмия и кальцитонина ($p < 0,001$). У этих же животных (Cd и Cd+КТ) отмечалось достоверное снижение скорости клубочковой ультрафильтрации ($p < 0,01$). У контрольных животных с моделью гипокальциемии достоверное снижение канальцевой реабсорбции относительно интактных ($p < 0,02$) было выражено в меньшей степени относительно групп с введением кадмия ($p < 0,01$), что отмечалось на фоне небольшого увеличения скорости клубочковой фильтрации ($p < 0,05$).

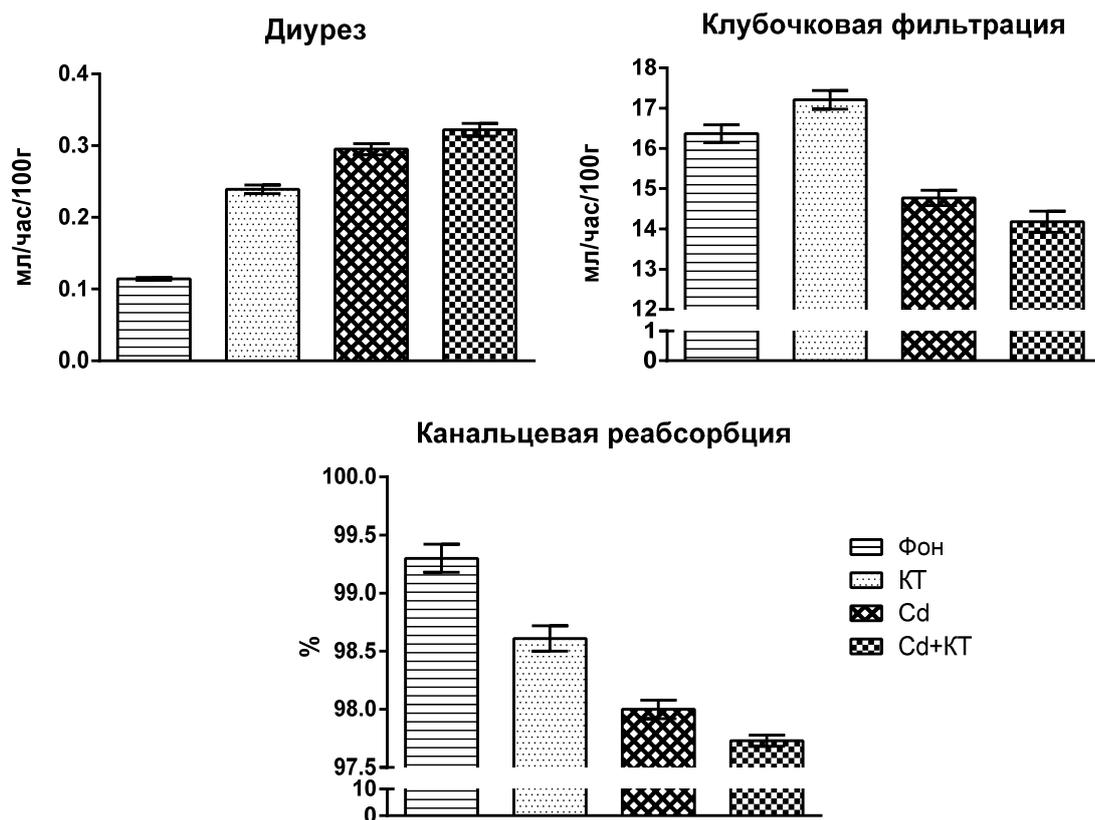


Рис. 1. Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на водовыделительную функцию почек

Пониженному уровню концентрации кальция в крови (рис. 2) у животных с моделью гипокальциемии (КТ) относительно интактных животных ($p < 0,001$) соответствуют значительное снижение уровня его канальцевой реабсорбции ($p < 0,001$) и значения его фильтрационного заряда ($p < 0,01$), что выражается в значительном ($p < 0,001$) повышении экскреции катиона с мочой. Подобные изменения отмечаются и при изолированном введении соли кадмия (Cd), и при введении кадмия на фоне гипокальциемии (Cd+КТ), однако выраженность изменений указывает на возможное взаимное потенцирование эффектов избытка кальцитонина и введения сульфата кадмия. Так, на фоне низкого фильтрационного заряда ($p < 0,001$) кальция у животных опытной группы (Cd+КТ) отмечены более значительное снижение канальцевой реабсорбции ($p < 0,001$) и соответственно самое выраженное повышение его экскреции ($p < 0,001$).

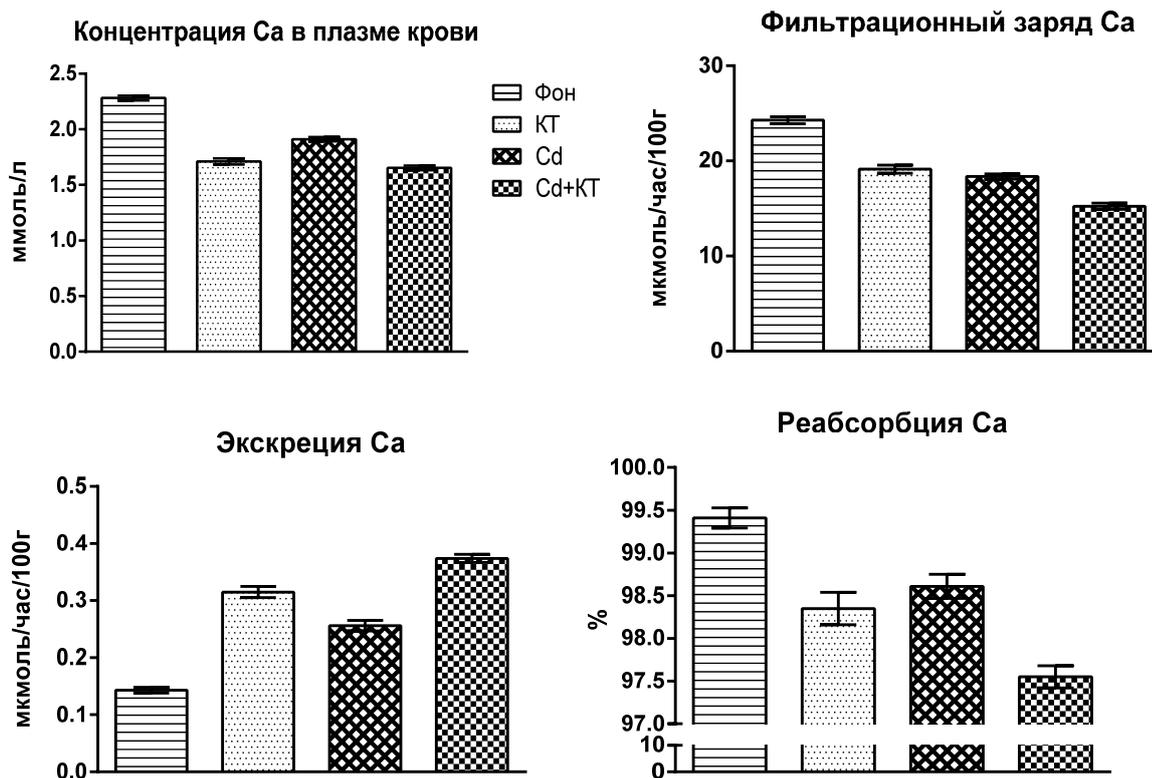


Рис. 2. Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на обмен кальция

Вызванные изменения кальциевого обмена и кадмиевая экспозиция в течение месяца также отразились в метаболизме таких эссенциальных элементов, как натрий и калий (табл.). На фоне гипокальциемии отмечено небольшое снижение натрия в плазме крови ($p < 0,05$), что, вероятно, связано с невыраженным увеличением экскреции катиона ($p < 0,05$) за счет уменьшения его канальцевой реабсорбции ($p < 0,05$). Аналогичные изменения наблюдаются у крыс с введением кадмия и в большей степени – с гипокальциемией на фоне кадмиевой интоксикации. В обеих группах отмечено значительное повышение экскреции натрия (Cd и Cd+КТ – $p < 0,001$) вследствие выраженного снижения его канальцевой реабсорбции (Cd – $p < 0,01$; Cd+КТ – $p < 0,001$) на фоне снижения фильтрационного заряда катиона (Cd и Cd+КТ – $p < 0,001$). Потери катиона с мочой, а также, возможно, влияние кадмия на мембранные транспортные механизмы привели к снижению его уровня в плазме крови (Cd и Cd+КТ – $p < 0,001$).

Изменения метаболизма калия (табл.) носили несколько иной характер. Так, у животных с введением сульфата кадмия, как изолированно, так и на фоне гипокальциемической модели (Cd и Cd+КТ), наблюдалось достоверное повышение экскреции калия с мочой в условиях повышения концентрации катиона в плазме крови и, соответственно, увеличение фильтрационного заряда (все показатели Cd и Cd+КТ – $p < 0,001$).

Напротив, у животных с гипокальциемией отмечено небольшое снижение концентрации калия в плазме крови ($p < 0,05$) без достоверных изменений других показателей почечной обработки катиона.

Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на обмен натрия и калия

Показатель	Стат. п-ли	Группы животных			
		Фон	КТ	Cd	Cd + КТ
Натрий крови	M±m	142,5±0,35	139,7±0,28	133,7±0,54	131,5±0,26
	p		↓	↓Δ	↓Δ*
Экскреция натрия, мкмоль/час/100 г	M±m	8,989±0,23	12,94±0,33	13,22±0,26	14,86±0,47
	p		↓	↓Δ	↓Δ*
ФЗ натрия	M±m	2216,09±29,7	2284,03±19,9	1876,01±34,1	1771,44±37,8
	p			↓Δ	↓Δ*
Реабсорбция натрия	M±m	99,59±0,010	99,43±0,024	99,30±0,008	99,16±0,016
	p		↓	↓	↓Δ*
Калий крови	M±m	4,28±0,033	4,11±0,027	5,83±0,085	5,94±0,076
	p		↓	↓Δ	↓Δ
Экскреция калия, мкмоль/час/100 г	M±m	6,618±0,203	7,8±0,077	8,2±0,122	8,9±0,12
	p			↓Δ	↓Δ*
ФЗ калия	M±m	66,56±1,08	67,20±1,57	81,80±0,83	80,02±1,44
	p			↓Δ	↓Δ

↓ – достоверное отличие от Фона; Δ – достоверное отличие от группы контроля с введением кальцитонина;

* – достоверное отличие от группы контроля с введением сульфата кадмия.

Повреждающее действие измененного кальциевого обмена и в большей степени кадмиевой интоксикации проявлялось в выраженной протеинурии (рис. 3), что могло быть свидетельством как поражения фильтрационного барьера клубочков нефронов, так и деструкции канальцевого аппарата. Экскреция белка у животных с введением сульфата кадмия увеличилась более чем в десять раз ($p < 0,001$) и еще больше – при введении соли кадмия на фоне вызванной гипокальциемии ($p < 0,001$).



Рис. 3. Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на экскрецию белка с мочой

Предварительные исследования гемодинамических показателей (рис. 4) выявили у всех животных контрольных и опытной групп изменения показателей артериального давления. Так, у крыс с измененным кальциевым обменом было отмечено повышение САД на 11,7% от исходного (фоновое, $p < 0,001$), что в большей степени произошло за счет СД, которое было увеличено на 15,7% ($p < 0,001$), притом что ДД повысилось на 8,9% ($p < 0,05$). По значительному изменению пульсовой разницы давлений (ПД), увеличенной на 27,6% ($p < 0,001$), и менее выраженному (на 22 уд/мин, $p < 0,01$) увеличению ЧСС (рис. 5) можно предположить, что увеличение САД произошло в основном за счет прироста сердечного выброса. Это, вероятно, связано с тем, что действие кальцитонина приводит к снижению интенсивности активного транспорта кальция из клеток, повышению содержания и внутриклеточного распределения кальция [15] и тем самым – к увеличению гладкомышечного тонуса сосудов.

К большему повышению САД (на 14,5%; $p < 0,001$) также привела длительная экспозиция крыс кадмием, что, однако, было обусловлено более выраженным повышением ДД – на 17,1% ($p < 0,001$), чем СД – на 12,7% ($p < 0,01$), без достоверного изменения ПД. Подобный эффект может быть связан с про-вазоконстрикторным проявлением токсического действия кадмия, что в своих работах отмечали многие авторы [13, 14]. Также токсическое действие кадмия проявилось в большем (на 39 уд/мин) приросте ЧСС ($p < 0,001$).

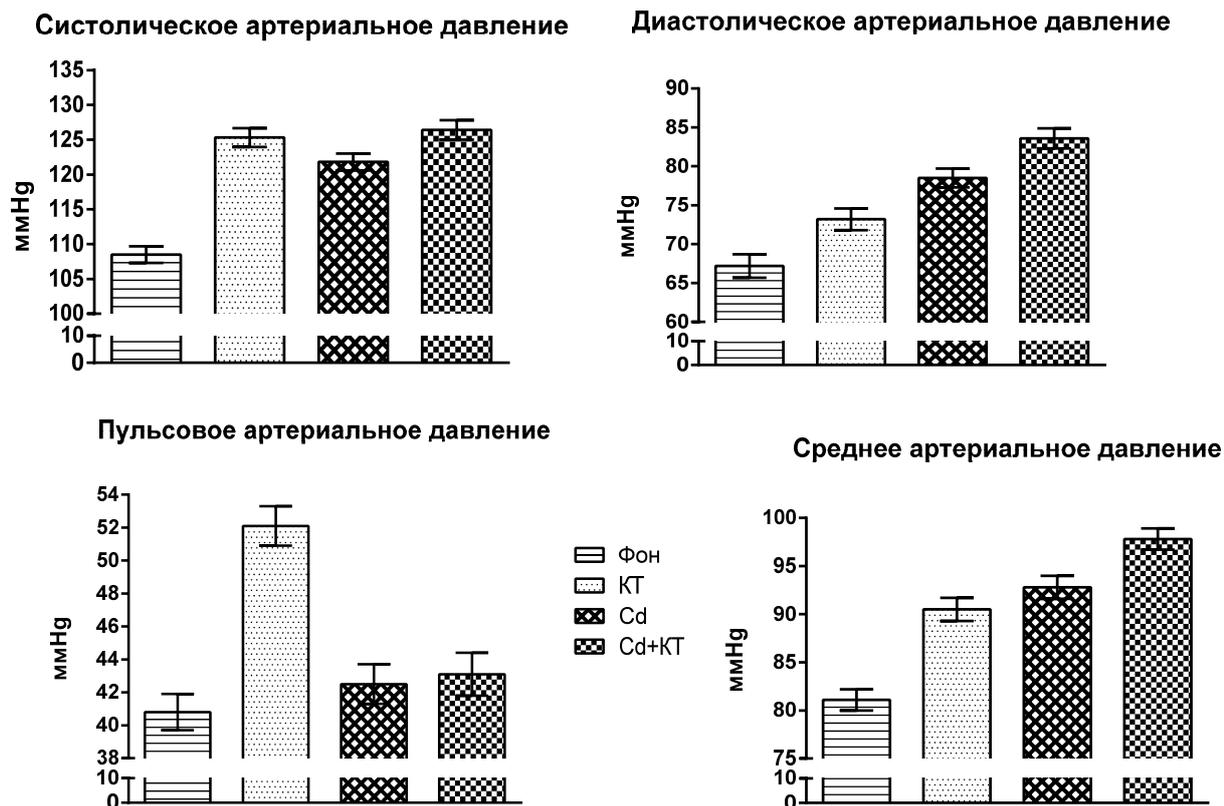


Рис. 4. Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на показатели артериального давления

Комбинирование гипокальциемического состояния с токсическим действием кадмия (группа Cd+КТ, рис. 4) привело к максимальному среди исследуемых групп увеличению САД – на 20% ($p < 0,001$), что сочеталось также с максимальным приростом ДД – на 24,7% ($p < 0,001$) и близким к контрольным группам (КТ, Cd) повышением СД (на 17%; $p < 0,001$). ПАД, так же как и у группы с изолированным введением сульфата кадмия (Cd), достоверно не изменялось. ЧСС у животных опытной группы (Cd+КТ) увеличилась в среднем на 44 уд/мин ($p < 0,001$) относительно интактных животных.

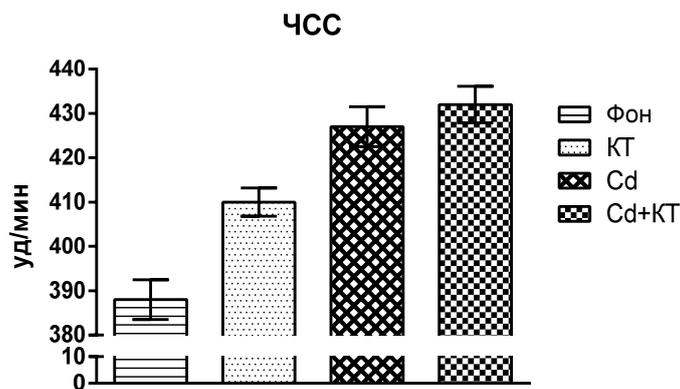


Рис. 5. Влияние сульфата кадмия на фоне гипокальциемии, вызываемой введением кальцитонина, на частоту сердечных сокращений

Обобщая изменения показателей артериального давления и ЧСС, можно отметить, что при сочетанном влиянии избытков кальцитонина и тяжелого металла в большей степени проявляются токсические эффекты кадмия (Cd) по сравнению с изолированной гипокальциемической моделью (КТ). Вместе с тем отмечается потенцирование изменений у животных с комбинированной моделью влияния гипокальциемии и избытков кадмия, что выражается в увеличении ДД, САД и ЧСС. Корреляция изменений гемодинамических показателей с изменениями электролитного обмена у животных контрольной группы с введением кальцитонина.

Между измененными показателями обмена электролитов и водовыделительной функции почек и некоторыми показателями гемодинамики соответствующих групп животных отмечаются некоторые корреляционные связи. Так, при изменении СД по группам контрольных и опытных животных имеются обратная корреляционная связь с изменениями концентрации кальция в крови ($r=0,997$; $p=0,0029$) и прямая корреляция изменений СД с экскрецией катиона ($r=0,958$; $p=0,0412$).

Изменения САД имеют ряд корреляционных связей с изменениями показателей электролитного обмена. Так, отмечается тесная обратная корреляция изменений САД с изменениями фильтрационного заряда ($r=-0,992$; $p=0,0072$) и канальцевой реабсорбции кальция ($r=-0,955$; $p=0,0444$), а также с изменением концентрации натрия в крови ($r=-0,988$; $p=0,0119$) и его реабсорбции ($r=-0,964$; $p=0,0353$). Прямая корреляция изменений САД отмечается с изменениями экскреции катионов – натрия ($r=0,992$; $p=0,0077$) и калия ($r=0,980$; $p=0,0195$). Увеличение ЧСС также имеет выраженные прямые корреляции с изменениями экскреции натрия ($r=-0,952$; $p=0,047$) и калия ($r=0,983$; $p=0,016$), а также достоверные обратные корреляции с концентрацией натрия в крови ($r=-0,987$; $p=0,0128$) и его канальцевой реабсорбцией ($r=-0,963$; $p=0,0371$).

Заключение

Полученные корреляционные взаимоотношения связывают с отклонениями в показателях гемодинамики на фоне избытка кальцитонина и влияния кадмия на электролитный баланс. С учетом полученных данных можно предположить, что изменения в гемодинамике в большей степени связаны не столько с нарушением обмена катионов на уровне почек, сколько с известным влиянием кальцитонина и кадмия на мембранный транспорт электролитов, а также с вовлечением почек в патологическую экспрессию регуляторов артериального давления [7]. Как показали результаты нашей работы, имеются

механизмы сочетанного потенцирования эффектов как изменений гемодинамики, так и в обмене электролитов, для их изучения требуется проведение дополнительных исследований.

Список литературы

1. Wang L., Cao J., Chen D., Liu X., Lu H., Liu Z. Role of oxidative stress, apoptosis, and intracellular homeostasis in primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to cadmium. *Biol. Trace Elem Res.* 2009. V. 127(1). P. 53-68. DOI: 10.1007/s12011-008-8223-7.
2. Кокаев Р.И., Брин В.Б. Некоторые особенности влияния ацизола при длительном введении хлорида кобальта и сульфата кадмия // *Владикавказский медико-биологический вестник.* 2012. Т. 15. № 23. С. 48-51.
3. Van Kerkhove E., Pennemans V., Swennen Q. Cadmium and transport of ions and substances across cell membranes and epithelia. *Biometals.* 2010. №23. P. 823-855. DOI: 10.1007/s10534-010-9357-6.
4. Choong G., Liu Y., Templeton D.M. Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 2014. V. 11. P. 54-65. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.01.007.
5. Zhou X., Hao W., Shi H., Hou Y., Xu Q. Calcium homeostasis disruption - a bridge connecting cadmium-induced apoptosis, autophagy and tumorigenesis. *Oncol. Res. Treat.* 2015. V. 38(6). P. 311-315. DOI: 10.1159/000431032.
6. Xu S., Pi H., Chen Y., Zhang N., Guo P., Lu Y., He M, Xie J., Zhong M., Zhang Y., Yu Z., Zhou Z. Cadmium induced Drp1-dependent mitochondrial fragmentation by disturbing calcium homeostasis in its hepatotoxicity. *Cell. Death Dis.* 2013. V.4. P. e540. DOI: 10.1038/cddis.2013.7.
7. Baker J.R., Satarug S., Edwards R.J., Moore M.R., Williams D.J., Reilly P.E. Potential for early involvement of CYP isoforms in aspects of human cadmium toxicity. *Toxicol. Lett.* 2003. V. 137. №1-2. P. 85–93. DOI:10.1016/s0378-4274(02)00382-x.
8. Nawrot T., Geusens P., Nulens T.S., Nemery B. Occupational Cadmium Exposure and Calcium Excretion, Bone Density, and Osteoporosis in Men. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2010. V. 25. № 6. P. 1441–1445. DOI: 10.1002/jbmr.22.
9. Кокаев Р.И., Брин В.Б. Нефропротекторные эффекты ацизола на фоне токсического действия сульфата кадмия // *Нефрология.* 2016. Т. 20. № 5. С. 90-96.
10. Jancic S., Bojanic V., Rancic G., Joksimovic I., Jancic N., Zindovic M., Stankovic V. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) - microadenomas of the thyroid gland induced by cadmium toxicity. *Experimental study. J. BUON.* 2011. V. 16(2). P. 331-336.
11. Youness E.R., Mohammed N.A., Morsy F.A. Cadmium impact and osteoporosis: mechanism of action. *Toxicol Mech Methods.* 2012. V. 22(7). P. 560-567. DOI: 10.3109/15376516.2012.702796.

12. Nishijo M., Nambunmee K., Suvagandha D., Swaddiwudhipong W., Ruangyuttikarn W., Nishino Y.. Gender-Specific Impact of Cadmium Exposure on Bone Metabolism in Older People Living in a Cadmium-Polluted Area in Thailand. *Int. J. Environ Res. Public Health*. 2017. V. 14(4). DOI: 10.3390/ijerph14040401.
13. Varoni, M.V. Palomba D., Gianorso S., Anania V. Cadmium as an environmental factor of hypertension in animals: new perspectives on mechanisms. *Veterinary Research Communications*. 2003. V. 27. №1. P. 807–810. DOI: 10.1023/b:verc.0000014277.06785.6f.
14. Nwokocha C.R., Baker A., Douglas D., McCalla G., Nwokocha M., Brown P.D. .Apocynin Ameliorates Cadmium-Induced Hypertension Through Elevation of Endothelium Nitric Oxide Synthase. *Cardiovasc Toxicol*. 2013. May 24. DOI: 10.1007/s12012-013-9216-0.
15. Лычкова А.Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы. Актуальные вопросы патофизиологии // Вестник РАМН. 2013. № 6. С.49-55.